Grappe agro-scientifique canadienne pour l'horticulture 2

Rapport sur les progrès – avril 2015

Activité 16, Pomme de terre 15

Inspection et surveillance de la chip zébrée et du psylle de la pomme de terre

Chercheur principal

Dan L. Johnson, Ph. D., Université de Lethbridge

Collaborateurs

Larry Kawchuk, Ph. D., Agriculture et Agroalimentaire Canada
Scott Meers, ministère de l'Agriculture et du Développement rural de l'Alberta
ainsi qu'un réseau de plus de 30 conseillers agricoles et des échantillons de champ

Objectifs de l'activité

Recueillir des données sur la présence de la chip zébrée des pommes de terre au Canada et examiner les tubercules présentant des symptômes pour détecter la présence de l'agent étiologique *Candidatus Liberibacter solanacearum*; obtenir de nouvelles données sur l'insecte vecteur, le psylle de la pomme de terre, en recueillant des échantillons dans les champs, en identifiant les espèces et leurs étapes de développement, en cartographiant les cas relevés s'il y a lieu, en établissant et en mettant en œuvre un programme de surveillance, en évaluant les effets des conditions météorologiques et des variations et mouvements régionaux, en déterminant la portée géographique potentielle et en établissant un modèle de prévision géographique sur le cycle biologique et le développement de l'insecte.

Progrès de la recherche à ce jour

1) Échantillon d'insecte

En 2013 et 2014, les participants du réseau ont prélevé des échantillons dans les champs pour dépister l'insecte vecteur, *Bactericera cockerelli* ou le psylle de la pomme de terre. Ils ont fait parvenir des cartons collants jaunes à l'Université de Lethbridge afin qu'un examen microscopique soit effectué. Les cartons de prélèvement des échantillons pour l'année 2015 ont été envoyés à plus de 70 participants possibles, avec des images en couleur de l'insecte ciblé et un mode d'emploi sur la manière de prélever les échantillons.

En 2013, plus de 800 cartons collants jaunes ont été achetés et envoyés aux participants du réseau. Environ 200 cartons supplémentaires ont été placés sur le bord des chemins, dans les jardins et dans les zones infestées de mauvaises herbes en Alberta et en Colombie-Britannique pour vérifier les habitudes de migration des psylles. Les cartons de prélèvement des échantillons sont jaunes (ce qui attire les insectes) et

collants. Ils sont placés dans le champ pour recueillir des échantillons pendant une semaine et sont ensuite examinés. En 2013, aucun psylle de la pomme de terre n'a été découvert, bien que des insectes aient été remarqués et photographiés pour fournir un guide aux producteurs et aux professionnels de la lutte antiparasitaire. En 2014, un total de 1 175 cartons collants jaunes ont été utilisés dans le cadre de l'échantillonnage hebdomadaire dans les champs, et les insectes sur 875 d'entre eux ont été examinés en laboratoire. Les données sont disponibles sur demande. De plus, un échantillonnage par balayage, des pièges à eau pour insectes et un examen des feuilles ont été utilisés (méthodes à exploiter davantage en 2015 si des assistants peuvent être embauchés). Aucun psylle de la pomme de terre n'a été découvert durant cette importante étude, bien que plus de 500 psylles connexes (pas de la même espèce, et ne présentant pas l'agent pathogène causant la chip zébrée) d'apparence semblable ont été trouvés (ne représentent pas un problème de maladie ou d'infestation). Du mois d'octobre 2014 au mois de janvier 2015, des cartons ont été réexaminés plus en détail (au microscope, les 30 cellules de chaque carton). En février, l'enquêteur principal Dan Johnson s'est rendu au laboratoire de l'AAC à Agassiz pour examiner tous les cartons d'échantillonnage d'insectes utilisés dans la région en 2014. Un grand nombre de psylles autres que de la pomme de terre ont été découverts pour être analysés plus en profondeur, mais aucun psylle de la pomme de terre et aucun agent pathogène causant la chip zébrée n'ont été trouvés. La Colombie-Britannique fait maintenant partie active du réseau national de surveillance de la chip zébrée et du psylle de la pomme de terre.

2) Des mesures ont été prises en matière de prévision et de mise en correspondance avec le climat, ainsi que pour l'élaboration d'un SIG et d'une base de données climatiques pour les régions de culture de pommes de terre. Cela permettra de noter les emplacements canadiens en fonction de la survie probable et du développement de l'insecte vecteur et de l'agent pathogène, incluant les méthodes de mise en correspondance avec le climat et l'évaluation des conditions et de la superficie des cultures ainsi que la présence de mauvaises herbes de la famille des solanacées. Des études statistiques et de modélisation ont été lancées et seront effectuées lorsque les données climatiques et sur les cultures auront été obtenues. Des modèles expérimentaux seront construits pour prévoir le taux de maturation, l'alimentation et le vol de l'insecte. Un étudiant aux cycles supérieurs a commencé, en mars, une étude de mise en correspondance avec le climat et une autre débutera dans le courant de l'année sur les méthodes de détection moléculaires ou d'échantillonnage.

3) Évaluation en laboratoire pour la recherche de pathogène
pour détecter la présence de l'agent étiologique de la chip zébrée, *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso), l'ADN génomique a été extrait du tissu végétal ou de psylles à l'aide de la trousse d'extraction de l'ADN Mericon de Qiagen. Les méthodes d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) ont été utilisées pour effectuer les tests sur l'ADN de l'agent pathogène. La méthode d'essai a correctement identifié les échantillons d'étalonnage dont on savait qu'ils étaient positifs. Tous les échantillons de plantes et les psylles canadiens qui ont été soumis en 2014 ont obtenu des résultats négatifs à l'égard de la bactérie Lso. Les données sur les 43 échantillons de plantes infectées qui ont été analysés sont disponibles sur demande. Pour détecter la présence de l'agent étiologique de la chip zébrée, *Candidatus Liberibacter solanacearum* (Lso), l'ADN génomique a été extrait du tissu végétal ou de psylles à l'aide de la trousse d'extraction de

l'ADN Mericon de Qiagen. Des amplifications en chaîne par polymérase (PCR) ont été effectuées avec 5 µl de l'ADN du modèle extrait dans un mélange réactionnel total de 25 µl pour chaque échantillon en utilisant des amorces spécifiques de la bactérie Lso (Tableau 1) pour 16 S rDNA OA2 et O12c à une température de renaturation de 65 °C et 35 cycles (point d'ébullition de 1168) et pour la séquence codante de la membrane extérieure du Lso avec OMB 1482F et OMB 2086R, à une température de renaturation de 55 °C et 40 cycles (fragment à un point d'ébullition de 605). Des essais PCR ont été effectués avec des amorces spécifiques au gène répresseur *Cls* LexA, LexaF et LexAR, à une température de fusion de 67 °C et 35 cycles (point d'ébullition 250) et au gène Uridylate Kinase avec amorces UDKF et UDKR à une température de fusion de 67 °C et 35 cycles (point d'ébullition de 250). Des résultats positifs ont seulement été obtenus pour les témoins positifs de psylle et de plante testés en 2014 avec l'ensemble d'amorces évaluées (Figure 1). Tous les psylles canadiens et les échantillons de plantes (Tableau 2) qui ont été soumis en 2014 ont obtenu des résultats négatifs à l'égard de la bactérie Lso.

Au total, 300 nouveaux psylles (autres que de la pomme de terre) ont été retirés des cartons d'échantillonnage 2014 (au laboratoire de recherche sur les insectes, Dan Johnson, Université de Lethbridge) et transférés dans des fioles d'alcool individuelles pour être évalués par le laboratoire de biologie moléculaire (Larry Kawchuk, AAAF, Centre de recherche Lethbridge). Ces psylles feront l'objet d'essais même s'ils ne sont pas de l'espèce des psylles de la pomme de terre afin de s'assurer qu'ils sont exempts d'agents pathogènes et d'acquérir de l'expérience en matière de test et de confirmation des méthodes d'essai. Jusqu'à présent, les essais indiquent que l'agent pathogène causant la chip zébrée n'est présent dans aucun échantillon canadien.

4) Collaboration avec les États-Unis. Nous sommes en communication avec plusieurs laboratoires importants aux États-Unis qui effectuent des recherches sur ce problème. En juillet 2014, D. Johnson s'est rendu au Kimberly Research & Extension Center de l'Université de l'Idaho, à Kimberly, pour rencontrer Erik Wenninger et examiner ses recherches sur le psylle de la pomme de terre.

5) Un nouvel étudiant aux cycles supérieurs, Quing (Summer) Xia effectue une recherche sur la cartographie climatologique pour prévoir les facteurs d'établissement possible.

6) Des modèles expérimentaux du développement et de l'apparence des œufs et des insectes aux stades immatures sont en cours d'élaboration pour utilisation au Canada afin de déterminer le moment d'apparition probable et leur taux de survie.

Résultats préliminaires (s'il y a lieu) ou défis

Aucun carton issu d'Ontario n'a été retourné en 2013 et aucune information provenant d'Ontario n'était disponible en 2014, mais des cartons seront fournis en 2015 et devront être retournés pour examen. La Colombie-Britannique s'est jointe au réseau et a fourni un ensemble de psylles connexes. Nous avons préparé l'ébauche d'un document de référence pour que les ouvriers agricoles et les producteurs puissent distinguer les psylles.

Principaux messages

Un examen minutieux de plus de 2 300 cartons provenant du Nouveau-Brunswick, du Manitoba, du Québec, de l'Alberta et de la Colombie-Britannique n'a révélé aucun cas de psylle de la pomme de terre. L'échantillonnage et le suivi se poursuivent, ainsi que la prévision des facteurs de probabilité qui devraient avoir une incidence sur l'agent pathogène et les insectes s'ils pénètrent au Canada. Nous avons ajouté des comptoirs de vente de plantes aux sites de surveillance. Les insectes ont été analysés pour découvrir l'ADN de l'agent pathogène, et aucun n'est apparu jusqu'à présent dans nos échantillons pris dans les champs.

Ce projet est financé par

Agriculture et Agroalimentaire Canada | Agriculture and Agri-Food Canada

Cultivons l'avenir 2

Une initiative fédérale-provinciale-territoriale